Vol. IV Giugno 1932 - A. X Fasc. VI

SOCIETÀ INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

BOLLETTINO

DELLA

SEZIONE ITALIANA

SOMMAIRE

Elenco degli Aderenti 160

Puntoni V. — A propos des soi-disant « phénol-bactériques » et de la reconstitution, au sein de filtrats, des bacilles tuberculeux 161

Penso G. — Description des kystes de « Trichomonas intestinalis » 165

Berzi A. et Cappellini I. — Premiérs résultats sur l'effect des rayons mitogénétiques sur la multiplication d'une souche de bacterium typhi 167

Bettazzi G. — Sur la différenciation des bacilles métadysentériques par le différent pH des milieux de culture lactosés . 170

Segre G. V. — L'action des hormones gravidiques sur le développement du myco-bacterium du tubercule dans les milieux culturaux 172

Del Carpio I. et Consoli V. — A propos du pouvoir que le sang défibriné de la femme en travail d'accouchement exerce en provoquant l'interruption de la grossesse. (Epreuves expérimentales) 175

Cucco G. P. — Essai du pouvoir pathogène des Cocci pyogènes . 177

Di Aichelburg U. — Observations sur les propriétés biochimiques de certaines espèces des monillas 179

Taddei A. — L'action de la lysocithine sur les microrganismes . 181

SOCIETÀ INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

SEZIONE ITALIANA

Segue ELENCO DEGLI ADERENTI

335. – Cardon dott. Giuseppe - Via Roma 3, *Livorno.*

336. – Fugazza dott. Edvige - Via Sardegna 22, *Milano.*

337. – Gentilucci dott. Stefano - Via del Maneggio 2, *Perugia.*

338. – Gorriere dott. Ippocrate - Via Vitt. Emanuele 199, *Firenze.*

339. – Muzio dott. Concetto - Via Ciprario 72, *Torino.*

340. – Perin prof. Arrigo - Direttore Ospedale Cassa Nazionale Assicurazione - *Vialba* (Milano).

341. – Zoia prof. Luigi - R. Clinica Medica Ospedale Maggiore, *Milano.*

AVVISO

Sono in vendita le annate 1929 e 1930 del "Bollettino„ al prezzo di Lit. 25 (estero 50) e i volumi degli Atti dei Congressi 1930 e 1931 al prezzo di Lit. 30.

L'abbonamento al "Bollettino„ della Sezione è di Lit. 25 (estero 50).

Per ordinazioni rivolgersi alla Segreteria, Via Darwin, 20, Milano.

PUNTONI V. – **A propos des soi-disant " phénol-bactériques " et de la reconstitution, au sein de filtrats, des bacilles tuberculeux.**

Dans une communication récente (1), G. Petragnani a affirmé qu'en mélangeant des bac. tuberculeux avec de l'acide phénique cristallisé, on obtient un mélange liquide — qu'il nomme « phénol-bactérique » — dans lequel la masse bacillaire « se diaphanise et disparaît presque complètement ». Le mélange, centrifugé pour en ôter quelques flocons en suspension, filtré par Chamberland L_2, et dissout à 1 p. 100 dans de l'eau distillée, donnerait lieu à un précipité et à la réapparition de b. acido-résistants.

Dans sa note, l'A. arrive à la conclusion que « si l'on veut être orthodoxe, suivant les règles acquises à ce jour, on devrait admettre que le phénol diaphanise et isotonise les corps bacillaires, sans les détruire, de manière à les rendre, au point de vue optique, indifférents dans le milieu, non déplaçables par la force centrifuge, ni retenables à travers les pores des bougies poreuses.... etc. ».

Dans des communications successives (2), l'A. modifie quelque peu cette opinion et affirme que « gran parte dei b. di Koch della patina bacillare sembra che si sciolga » (une grande partie des b. de Koch de l'enduit bacillaire semble se dissoudre), et que d'après ces recherches « la sua mente si orientava a pensare come cosa possibile la ricomposizione di corpi bacillari da liquidi nei quali i protoplasmi fossero stati dispersi » (son esprit était poussé à admettre comme une chose possible, la reconstitution de corps bacillaires au sein de liquides dans lesquels les protoplasma se fussent auparavant dispersés).

G. Dessy (3) confirme, dans ses traits fondamentaux, ces recherches et admet, pour l'explication des faits, la 2ème hypothèse de Petragnani. En outre, il veut faire remarquer que la reconstitution bacillaire n'aurait pas lieu dans un milieu alcalin.

En jugeant ces résultats comme bien extraordinaires nous avons voulu les contrôler et, dans ce but, nous avons utilisé, jusqu'aux moindres détails, la technique de Petragnani, et employé des cultures développées sur le milieu du même A., sur pomme de terre glycérinée et en bouillon glycériné.

---

(1) *Bollettino della Sez. ital. della Soc. internaz. di Microb.* (Ottobre 1931, pag. 647).
(2) *Boll. della Soc. ital. di Biol. Sperim.* Sezione di Siena (Seduta del 22 febbraio 1932).
(3) *Boll. della Sez. ital. della Soc. internaz. di Microb.* (Aprile 1932, p. 99).

A. – Comportement des b. tuberculeux dans le phénol-bactérique.

Puisque Petragnani, dans sa première communication, dit que le phénol isotonise les b. tuberculeux « sans les détruire » tandis que dans ses notes successives il affirme que le phénol les dissout et les disperse, nous avons voulu avant tout éclaircir ce fait. Si l'on étale directement sur lame une goutte de ph. b. (même préparé depuis quelques jours) et on chauffe jusqu'à évaporation du phénol, puis on colore par le Ziehl-Neelsen, on constate la présence d'une quantité enorme de b. tuberculeux en état parfait de conservation, bien colorables et sans aucune tendance à se désagréger et à se dissoudre. Donc, *le phénol ne modifie, ni le morphologie, ni l'acido-résistance des b. tuberculeux.* Ce fait confirmerait la première hypothèse de Petragnani, mais pas la seconde.

Si l'on observe le ph. b. à l'agglutinoscope, on constate que la masse bacillaire forme une dense suspension de flocons devenus presque transparents, qui, à l'ultramicroscope, présentent en général l'aspect granuleux caractéristique dès b. tuberculeux observés en champ obscur. *On n'a donc pu constater l'indifférence optique affirmée par Petragnani.*

Si l'on centrifuge (3000 tours) le ph. b., on obtient, avec une grande facilité, un sédiment abondant, demi-transparent et constitué seulement par des bacilles bien conservés et bien colorables, soit si l'on en fait directement des préparations, soit si l'on émulsionne préalablement dans l'eau.

Si l'on fait directement des préparations avec le phénol liquide et limpide qui se trouve au dessus du sédiment, on observe encore quelques rares unités bacillaires, mais si l'on centrifuge à 4000 tours, ces formes tendent à disparaître complètement. Donc, *nous ne sommes pas à même de confirmer l'insensibilité vis-à-vis de la force centrifuge*, comme cela est dit par Petragnani. Bien plus, on peut observer une sédimentation spontanée des flocons bacillaires dans le ph. b. laissé au répos.

Si l'on filtre par Chamberland L_2 le liquide obtenu par la centrifugation à 3000 tours (et contenant encore de rares unités bacillaires en suspension) et aussi en filtrant le ph. b. non centrifugé, on obtient un filtrat qui, dans des préparations directes, ne montre jamais des b. acido-résistants même après la plus soigneuse observation.

Donc, il ressort de nos recherches que les bougies ne se laissent traverser par aucune unité bacillaire morphologiquement formée et, par conséquent, *on ne peut pas admettre cet état d'homogénéité physique que supposait Petragnani dans sa première communication.*

B. – La réapparition présumée des bb. tuberculeux.

Le ph. b. filtré, dissout à 1% dans de l'eau distillée (PH. 6,8), donne lieu à l'apparition des menus flocons décrits par Petragnani. Ce précipité, directement observé, se montre sous la forme de petites masses constituées de gouttelettes et de matière amorphe. Par le réactif de Gueguen on le différencie en une partie basophile (probablement substance protéique) et une partie sudanophile (gouttes de graisse); par l'acétate de cuivre quelques-uns des éléments amorphes et quelques gouttelettes acquièrent une coloration verdâtre (probablement il s'agit d'acides gras).

Vraisemblablement tous ces éléments viennent d'être extraits de la masse bacillaire — qui reste toutefois morphologiquement intacte — ou de la substance interbacillaire, par le phénol.

En *colorant ce matériel par le Ziehl-Neelsen, nous n'avons jamais pu observer des formes acido-resistantes.* En employant, au contraire, la technique de Petragnani (décoloration faible par l'ac. sulphurique à 5%, traitement par l'alcool pendant 2-3 secondes au maximum), nous avons pu observer quelquefois des formes analogues à celles décrites par Petragnani (granulations, bb. teints en bleu, formes à batônnet rouges ou roses, etc) mais pas d'une façon constante, soit en ce qui concernait la nature des matériels examinés, soit dans les préparations faites avec le même matériel.

Dans les premières préparations nous avons pu observer de très rares formes vraiment bactériennes, morphologiquement variées, la plupart teintes en bleu, mais quelquefois aussi en rose. Au moyen de contrôles on a pu établir qu'elles provenaient des reactifs et, surtout, de l'eau distillée employée pour dissoudre le ph. b. Ces bactéries, difficilement décélables dans l'eau distillée à cause de leur rareté, tombaient plus facilement sous l'observation après la formation du précipité floconneux qui les entrainait en leur faisant subir comme une sorte d'enrichissement.

En employant de l'eau distillée filtrée à travers bougie neuve, pour dissoudre le ph. b. et pour la préparation de réactifs, nous n'avons pas eu la possibilité d'observer de typiques formes bactériennes; donc, *si l'on a soin d'expérimenter à l'abri de toute source d'éléments étrangers, on n'observe point les formes bactériennes observées par Petragnani.*

Si l'on colore par la méthode attenuée proposée par Petragnani, on peut avoir la chance d'observer de rares éléments pseudo-bacillaires, colorés en rouge ou en rose (dans quelques ph. b. ils manquent cependant tout-à-fait).

Nous croyons que ces éléments ne représentent pas de b. tuberculeux, car ils ne sont morphologiquement typiques, se montrent solubles dans l'alcool et on ne peut jamais les déceler par le Ziehl-Neelsen.

La rareté et l'incostance de ces éléments nous a empêché de les étudier systématiquement au point de vue microchimique. Toutefois nous pouvons penser qu'il s'agit d'acides gras dans un état physique entre l'état colloïdal ou amorphe et l'état cristallisé. Deux faits appuyeraient cette hypothèse; 1° les acides gras sont fucsinophiles et doués d'une certaine acido-résistance; 2° dans quelques rares préparations nous avons eu la chance heureuse (ph. b. provenant de culture de b. bovin Vallée sur pomme de terre) d'observer toutes les formes de transition entre les vrais cristaux (d'acides gras) et les formes bactéroïdes. Enfin, on sait que parmi tous les microbes, c'est du b. tuberculeux que l'on peut extraire la plus grande quantité d'acides gras et, en outre, que le phénol liquide pur dissout cette sorte d'acides.

Nous sommes donc poussés à croire que *les incostantes formes bactéroïdes, faiblement acido-résistantes et solubles en alcool soient des éléments qui représentent un état micellaire spécial des acides gras, et pas une reconstitution de véritables fragments de corps bacillaires.*

Nous nous sommes cependant demandés si ces inconstantes formations bactéroïdes représentent spécifiquement quelque chose des extraits phéniques des b. tuberculeux et d'une façon telle à justifier, du moins, l'hypothèse de la réapparition bacillaire. Même à cet égard, nous pouvons répondre negativement. En effet, en extrayant par l'acide phénique (rendu liquide par addition d'eau) différentes cires, nous avons pu observer un phénomène analogue à celui des ph. b., avec les extraits d'une cire végétale (cire de palmier-cire de carnauba). Ces extraits filtrés et dissous dans l'eau, donnent un précipité floconneux, semblable à celui des ph. b.. Si l'on colore par la technique de Petragnani, on peut observer (quoique d'une façon inconstante) la formation d'un reseau filamenteux dans les petites masses de précipité; de ce reseau prennent parfois origine des éléments bactériformes, colorables en rouge et plus suggestifs que ceux de ph. b.

Donc, *les formes bactéroïdes ne possèdent même pas les caractères de la dérivation spécifique puisqu'on peut les obtenir aussi d'extraits phéniqués de cire de carnauba.* Cette conclusion concorde avec celle de Ninni et Tsui (1), qui récemment ont fait des expériences de contrôle sur la reconstitution bacillaire *in vitro* au sein de filtrats de b. tuberculeux traités par le phosphate de calcium.

Je dois faire remarquer, enfin, qu' ayant préparé des ph. b. aussi avec des colibacilles et des staphylocoques, on n'a jamais pu observer, dans les filtrats dissous dans l'eau, aucune réapparition des microbes respectifs.

---

(1) *C. R. de la Soc. de Biol.* (Séance 21 Mai 1932, T. CX, pag. 173).

CONCLUSION.

En répétant les recherches de Petragnani sur les soi-disant phénol-bactériques, on n'a pu confirmer ni l'indifférence optique, ni l'indifférence vis-à-vis de la force centrifuge, ni la filtrabilité des bb. tuberculeux en suspension dans le phénol pur.

D'autant moins on n'a pu confirmer la reconstitution de bacilles acido-résistants dans les solutions des filtrats de ph. b.

Si l'on a soin de se mettre à l'abri de toute cause d'erreur, en évitant la présence de véritables formes bactériennes qui peuvent éventuellement se trouver dans les réactifs employés (eau distillée), on observe seulement des formes pseudo-bactériennes, faiblement acido-résistantes, solubles dans l'alcool et constituées, très probablement, d'éléments d'acides gras.

Mais ces formes sont des fausses images bactériennes; on peut aussi les obtenir, par les mêmes procédés, avec une cire végétale (cire de carnauba).

Institut de Bactériologie de l'Université de Rome.

PENSO G. – **Description des kystes de " Trichomonas intestinalis ".**

Malgré les recherches faites jusqu'à ce jour, aucun Auteur n'a réussi encore à voir et à décrire les kystes des « Trichomonas » parasites de l'homme.

Prowazek, en 1904, Bohne e Prowazek, en 1908, et Ucke, au cours de la même année, décrivirent comme kystes de « Trichomonas » le « Blastocystis jalinus » (Perroncito), fait qui fut confirmé à tort par Bensen (1909) et par Lynch (1915). Ce dernier Auteur publiait en 1916 sa prétendue découverte des kystes de « Trichomonas », alors qu'en réalité, il ne faisait que décrire, dans son travail, les kystes du « Chimoastix mesnili ». Ensuite, en 1922, il reconnaissait sa propre erreur, et admettait que les kystes de « Trichomonas » restaient encore à découvrir; en 1930, revenant sur ce sujet, il cherchait à justifier son erreur d'autrefois, en disant qu'en 1916, les kystes de « Chilomastix » n'étaient pas encore bien connus.

***

Dernièrement, nous avons eu l'occasion de voir un cas très grave d'infestation par les « Trichomonas intestinalis ». Dans les selles du malade (il s'agissait d'un cas d'infestation pure par les « Trichomonas intestinalix » sans aucun autre parasite) on notait une énorme quantité de « Trichomo-

nas intestinalis », jusqu'à dix ou douze dans chaque champ du microscope, en observant avec un objectif à immersion.

Nous avons fait des préparations à l'hématoxyline ferrique, et, à côté des formes communes et typiques de « trichomonas intestinalis » à l'état végétatif, nous avons observé quelquefois des corps qui attirèrent aussitôt notre attention, par leur aspect, leur forme et leur structure.

Il s'agissait de corps légèrement piriformes, aux extrémités arrondies et mesurant dans leurs plus grands diamètres 8-12 × 4-5 microns.

A l'intérieur de ces corps, on remarquait une masse, fortement colorée en noir, d'aspect réniforme. Cette masse se trouvait toujours vers l'extrémité la plus large du corps et sa concavité était tournée du côté du centre de ce corps.

En haut, presqu' à l'extrémité la plus effilée du corps, on voyait nettement un granule fortement sidérophile, situé sur le côté et presque au-dessus de la masse décrite précédemment. De ce granule sidérophile partait un filament ondulé qui se dirigeait d'abord vers le côté opposé, et ensuite, en faisant un arc à concavité interne, vers le centre de la masse mentionnée ci-dessus.

Parallèlement à l'arc de ce filament ondulé, couraient deux autres filaments dont le premier effleurait les anses inférieures du filament ondulé. Ces deux filaments limitaient un espace étroit en forme de ruban, une espèce de bande qui, dans l'ensemble, ressemblait presque à un point d'interrogation renversé. Le reste de la surface de ces corps piriformes se présentait toujours plus ou moins uniformément granuleux.

Comment donc interpréter ces corps ?

Leur grandeur, leur forme, leur aspect granuleux laissaient supposer avec raison qu'on se trouvait en présence d'un élément protozoaire, et, en particulier, d'un kyste.

En effet, le corps que nous avons observé avait une forme bien définie et contenait une masse réniforme composée de fragments sidérophiles, masse qui pouvait être considérée facilement comme un noyau.

Le granule sidérophile, situé au-dessus de la masse nucléaire, vers l'extrémité la plus étroite du corps, pouvait être intérprété facilement lui aussi: il s'agissait évidemment d'un blépharoplaste. En effet, le filament ondulé qui en partait devait être considéré comme un flagellé limitant une membrane ou les restes d'une membrane ondulante.

La bande située au-dessous du flagellé et comprise entre les deux filaments très fins, pouvait être considérée probablement comme un axostyle.

Maintenant, quel est le flagellé intestinal qui présente une membrane ondulante, un axostyle et un noyau réniforme ? Le « Trichomonas intestinalis » et seulement le « Trichomonas ».

Après ce raisonnement, nous fûmes convaincus de nous trouver en présence d'un « Trichomonas intestinalis » et précisément de son kyste.

En effet, que ce soit un kyste et non une forme végétative, on peu bien le conclure, étant donné que les corps que nous avons vus avaient une forme bien définie, à contours nets, sans membrane ondulante libre, ni flagellés libres, avec un grand noyau réniforme, avec un axostyle arqué et limité à une seule partie du protoplasma; tous ces caractères se rapportent d'autant plus à un élément cystique qu'ils s'opposent aux caractères bien connus du « Trichomonas » à l'état végétatif.

Et il est bien démontré que les kystes que nous avons vus sont réellement des kystes de « Trichomonas », et non ceux d'autres Flagellés intestinaux, par le seul fait qu'ils présentaient un reste de membrane ondulée, membrane qui est précisément la caractéristique du genre « Trichomonas ».

Nous croyons donc fermement que les corps que nous avons vus, décrits, dessinés et microphotographiés sont les kystes du « Trichomonas intestinalis » qui, jusqu'à ce jour, ont été cherchés en vain par beaucoup de savants.

Institut de Parasitologie Médicale de l'Université Royale de Rome.

BERZI A. et CAPPELLINI I. – **Premiers résultats sur l'effect des rayons mitogénétiques sur la multiplication d'une souche de bacterium typhi.**

Aprés la communication de Gourwitch sur l'existence d'une singulière énergie radiante qui émane par les tissus végétaux vivants (inducteurs) et qui se démontre capable d'éxciter la reproduction cellulaire, d'où le nom de rayons mitogénétiques, on a recherché la capacité rayonnante de pluosieurs aggrégats cellulaires.

Pareillement on a étudié la nature de ces rayons et la possibilité de réléver leur présence par les moyens non biologiques.

Le nombre des inducteurs est rapidement augmenté, la capacité rayonnante ayant été déclée dans un grand nombre de matériel d'origine végétale aussi bien qu' animale.

Quant à la nature des rayons mitogénétiques Gourwitch attendu qu'ils ne sont pas absorbés par le quartz et l'eau, et par contre sont absorbés par la gélatine, admet qu'ils soient de l'ordre des ultraviolets avec une longueur d'onde de 2300-1990 ängstroms.

On croit que l'origine soit due aux procés d'oxidation de glycolise, et de proteolise des protoplasmes cellulaires.

Parmi les moyens non biologiques de démonstration des rayons mitogénétiques ont étés appliqués l'effect Stempell, l'effect photoélectrique, l'effect ionométrique, la photographie et, on dit, avec de succés.

Nous avons recherché l'effect des rayons mitogénétiques sur la moltiplication des germes pathogènes. Pour le moment nous avons limité les recherches à une souche de b. Typhi, qui a été exposée à l'irradiation des coeurs de grenouille en contraction et d'une souche de Nadsonia Fulvescens fraîchement ensemencée; c'est-à-dire des inducteurs extimés les plus èfficaces es le muscle *sartorius* de grenouille tétanisé.

Le procedé que nous avons suivi a été le suivant: On prélève 10 cmc. d'une culture en bouillon de b. Typhi après agitation pour avoir une suspension bactérienne uniforme, et l'on partage en deux boîtes en verre stérilisés.

On expose une de ces boîtes à l'irradiation et à cet effect on renverse sur la boîte une petite plaque de Petri sans couvercle où a été ensemencée précédémment la Nadsonia Fulvescens sur gélose au bouillon de carottes, ou bien on pose sur la boîte une lame de quartz qui porte les coeurs de grenouille. La distance entre l'inducteur et le bouillon est ainsi réduite à 3-4 millimètres.

L'irradiation avec les coeurs de grenouille a été accomplie dans le termostate à 37°, celle avec Nadsonia f. à 30° environ,

La numération des bactéries avant et aprés l'irradiation (point très délicat dans ce genre d'expériences) a été accomplie avec la cellule de Thomas-Zeiss: on prélève le bouillon après agitation, avec la pipette des globules rouges et l'on délaye avec une solution de phénol 5%; ce désinfectant a été employé pour diminuer la mobilité des bactéries et rendre ainsi plus facile et précise leur numération.

L'autre boîte avec le bouillon sert de témoin pour établir l'accroissement du nombre des bactéries au dehors de l'irradiation.

Le pourcentage de croissence de la flore bactérienne dans le bouillon irradié a été établi avec le calcul, au moyen d'une proportion, du nombre des bactéries que renfermerait si la multiplication s'était produite avec le même rytme que dans le témoin.

Voilà groupés dans les deux tableaux suivants les résultats que nous avons obtenu au cours des recherches préliminaires:

Premiere Tableau. — Induction avec cultures de nadsonia fulvescens

	I	II	III	IV	V	VI
Nombre des bactéries pour mmc avant l'induction:						
portion témoine	321.250	308.300	610.000	862.000	442.000	1.250.000
portion pour irradiation	325.000	278.000	480.000	908.000	371.000	1.208.000
Nombre des bactéries pour mmc. après l'induction:						
portion témoine	607.000	437.500	1.300.000	1.275.000	631.000	1.625.000
portion irradiée	661.000	495.000	1.200.000	1.312.000	808.000	1.667.000
Age des cultures:						
b. Typhi	19h	5,3Oh	5h	17,3Oh	6h	19,3Oh
Nads. Ful.	19h	139h	29h	14h	72h	12Oh
Durée de l'irradiation	3,3Oh	3,3Oh	3h	4h	3,3Oh	3,3Oh
Pourcent. en plus ou en moin	+ 7,50	+ 26,70	+ 17,30	— 2,00	+ 53,00	+ 6,10

Deuxième Tableau. — Induction avec coeurs de grenouille (I-II) et de cobaye (III)

	I	II	III (1)
Nombre des bactéries pour mmc. avant l'induction:			
portion témoine	624.000	115.000	327.000
portion pour irradiation	700.000	144.000	357.000
Nombre des bactéries pour mmc. avant l'induction:			
portion témoine	1.200.000	352.500	500.000
portion pour irradiation	1.600.000	572.500	622.000
Age des culturesé	20h	5h	5h
Nombre des coeurs	3	4	1
Durée de l'irradiation	8'	12'	12'
Durée de la période post inductive en heures .	20h	5h	2,3Oh
Pourcent en plus ou en moins	19%	30,50%	14%

(1) Irradiation avec coeur de cobaye.

L'irradiation au moyen de Nads. F. pratiquée six fois a donné des résultats positifs cinq fois et une seule fois résultat négatif: cependant en deux expériences (I et IV) le pourcentage d'accroissement a été tellement bas qu'il est impossible de lui donner une valeur probante; dans les trois autres expériences le pourcentage est tel qu'il faut admettre que les bactéries exposées à l'induction mitogénétique se multiplient beaucoup plus rapidement que les bactéries témoins.

Il faut remarquer que soit dans les cas à faible pourcentage d'accroissement, que dans le cas négatif nous avons employé des cultures âgées de plus de 17 heures. Cela peut sans doute avoir influencé les résultats de l'expérience parce que la capacité de multiplication des bactéries dans les cultures diminue très vite après les premières heures de développement.

Avec les coeurs de grenouille nous avons fait un nombre très petit

d'expériences, parce que travaillant dans la saison froide il ne fut pas possible d'avoir des grenouilles aptes à nous donner des coeurs bien fonctionnants. Seulement en deux cas l'experience est allée avec suffisante régularité et paraillement nous voyons que le résultat positif a été obtenu avec une culture jeune et celui négatif avec une culture âgée de 17,30 heures.

Une fois nous avons employé comme inducteur un coeur de cobaye et nous avons obtenu un pourcentage d'accroissement de 13,50% en plus que dans les bactéries temoins.

Laboratoire de recherches cliniques de l'Hôpital de S. Maria Nuova - Florence.

BETTAZZI G. – **Sur la différenciation des bacilles métadysentériques par le différent pH des milieux de culture lactosés.**

Les recherches de Cerruti sur les bacilles métadysentériques (Gen. Castellanus, Cerruti), qui, à côté des caractéristiques sérologiques, mirent en évidence une certaine différence dans la manière de se comporter des germes appartenant au groupe Lankoides A = B. Ceylonensis A (Cast. Castellani - Variété Krusei-Castellani) en comparaison de ceux appartenant au groupe Lankoides B – B. Ceylonensis B, dans la rapidité et dans l'intensité de la fermentation du lactose, m'ont poussé à étudier la fermentation de ce disaccharide avec des souches appartenant aux groupes nommés ci-dessus et à ceux du B. de Sonne, type III et du B. de Kruse, race E, pour voir si l'on pouvait tirer de la concentration finale des hydrogénions des milieux de culture au lactose de nouveaux arguments propres à confirmer l'identité du B. de Sonne, type III et du B. de Kruse race E avec le B. Lankoides Ceylonensis A (Cerruti, De Assis, etc.). De même j'ai voulu voir si l'on pouvait différencier rapidement ces germes du groupe du B. Lankoides Ceylonensis B, sans être obligés de recourir aux réactions sérologiques.

Pour l'étude de la fermentation du lactose, je suis parti des cultures de souches susdites en eau peptonisée de 24 heures (à 37°) que j'ai ensemencé avec trois gouttes de culture de chaque souche en eau peptonisée lactosée 1% et en milieu de Clark, avec un pH initial oscillant de 7 à 7,4, dans des tubes de verre neutre contenant une quantité égale du milieu (6 cc.).

La détermination du pH a été régulièrement faite en 2;, 2;, 4;, 5;, 7;, 10; et 15; journée d'incubation.

J'ai déterminé le pH par la méthode colorimétrique. Les indicateurs

employés dans ces expériences ont été le bleu de bromothymol (pour un pH de 5,2 à 6,8) et le pourpre de bromocrésol (pour un pH de 6,0 à 7,6). Je me suis servi de l'appareil « Capillator » de la British Drug Houses. Il a l'avantage de permettre d'établir avec une suffisante exactitude la concentration des hydrogénions, même dans une petite quantité de liquide cultural. Il est formé d'une série de capillaires contenant les différentes solutions échantillons auxquelles on a ajouté l'indicateur relatif. Ces capillaires sont montés sur un petit carton blanc. Chaque petit carton contient la série correspondante aux variations de pH indiquées par un même indicateur, avec l'écart de pHpH = 0.2 entre eux. Pour déterminer le pH on aspire dans un capillaire une quantité déterminée (habituellement 2 ou 3 gouttes) du liquide à examiner qu'on mélange, avec soin, à une quantité égale du liquide indicateur correspondant au pH supposé. On aspire à nouveau le mélange dans le capillaire d'essai et l'on contrôle quel est le capillaire échantillon qui a la même teinte. On lit alors le pH qui correspond à cette teinte.

On doit faire cet examen à la lumière diffusée, soit directe, soit transmise.

Je me suis servi de ces indicateurs valables pour un pH de 5,2 à 7,6 car je savais déjà, d'après les recherches de Cerruti, que le pH final des métadysentériques oscillait justement entre les dites valeurs.

Après de nombreuses expériences j'ai pu observer que la valeur du pH doit être considérée comme définitive, à partir de la 3; et 4; journée d'incubation.

Pour les souches appartenant à l'espèce B Ceylonensis A, Kruse race E, Sonne type III, le pH oscille entre 7,0 et 6,0, tandis que pour les souches appartenant à l'espèce B. Ceylonensis B la concentration finale des hydrogénions atteint des valeurs plus élevées oscillant de 5,2 à 5,4.

Il existe donc une différence nette dans le pH final réjoint dans la fermentation du lactose par les b. métadysentériques de l'espèce A et les métadysentériques de l'espèce B de Castellani.

Aux propriétés sérologiques qui permettent de distinguer les métadysentériques A des métadysentériques B l'on peut donc ajouter aussi une différence très nette dans la concentration finale des hydrogénions qui s'établit dans leurs cultures en milieux lactosés avec des valeurs bien définies pour chaque groupe, valeurs qui peuvent par conséquent servir à la différenciation d'un groupe de l'autre.

Institut d'Hygiène de l'Université Royale de Turin.

SEGRE G. V. – **L'action des hormones gravidiques sur le développement du myco-bacterium du tubercule dans les milieux culturaux.**

Pendant ces dernières années nombre de contributions clinico-statistiques et expérimentales ont été apportées à propos de la question « tuberculose et maternité »; mais, pour ce qui se rapporte au point de vue pathogénique et prognostique autant qu'à celui des procédés à suivre dans la pratique, ils existent encore plusieurs divergences.

En général, presque tous les rechercheurs pensent pourtant que la grossesse exerce une influence nuisible sur la maladie, surtout lorsque la gestation est compliquée par des manifestations — même non sevères — d'intoxication gravidique, on par une insuffisance du coeur ou des reins, car ces faits, en débilitant l'organisme, vont empirer la lésion pulmonaire.

Pour expliquer l'action nuisible de la grossesse sur la tuberculose pulmonaire, on a invoqué non seulement des causes locales, mais aussi les conditions générales: il paraît que ces conditions se manifestent soit en agissant directement sur les myco-bactéries du tubercule et en leur créant, de la sorte, des conditions favorables pour leur vie, soit en diminuant les moyens naturels de défense de l'organisme.

L'on a cité, parmi les premières, la lipémie de la grossesse, due soit à une plus grande production de lipoïdes à origine hépatique, surrénale, placentaire et lutéinique, soit à una diminution du pouvoir lipolytique du sang. Même l'augmentation du taux glycémique, qu'on observe fréquemment au cours de la grossesse, pourrait probablement créer un milieu de culture favorable au développement du myco-bactérium de Koch. En outre, à cause de l'imbibition séreuse et du ramollissement des tissus, et particulièrement du tissu conjonctif, pendant la grossesse, en vue des processus de décalcification se réalisant dans l'organisme de la femme enceinte, le processus de guérison de la tuberculose (calcification du tubercule) rencontrerait des difficultés, de même que les foyers tuberculeux, déjà entourés et isolés par una capsule cicatricielle, pourraient s'ouvrir, ce qui serait un grand danger pour la diffusion.

M. Addessi a étudié l'action que les hormones gravidiques peuvent exercer sur l'évolution de la tuberculose pulmonaire des lapins, déterminée moyennant des injections, dans la veine marginale de l'oreille, d'une émulsion de myco-bactéries de la tuberculose bovine, souche Vallée. Les expériences de cet A. ont montré une considérable augmentation du pourcentage de la mortalité et un empirement des symptômes cliniques, que l'on a pu constater déjà un mois, un mois et demi après l'inoculation de la tuberculose, tandis qu'avant il n'était pas appréciable.

Au cours de ces expériences, M. Addessi a employé l'urine de femme enceinte et sur la base des recherches de contrôle il pense que l'empirement de la maladie, constaté chez les animaux injectés, ne doit pas être attribué à l'action toxique de l'urine, mais à quelque chose de particulier, contenu dans l'urine de la femme enceinte, et précisément à une action exercée par les hormones de la grossesse sur le processus tuberculeux en évolution.

L'activation de la maladie, due aux hormones présumablement injectés, pourrait être en relation soit avec une augmentation de la virulence des mycobactéries, soit avec une diminution des résistances de l'organisme, de manière que celui-ci serait particulièrement sensible à l'infection.

Par mes recherches je me suis proposé d'observer si, par l'apport, en différents milieux de culture, de l'urine et du sérum de sang de femme enceinte, on peut exercer une certaine influence sur le développement de la mycobactérie du tubercule.

En effet, d'après les observations d'Aschheim et Zondek l'on sait que dans le sang et dans l'urine des femmes enceintes il y a des hormones, dites gravidiques, qui, lorsqu'ils sont administrés à des animaux non pubères déterminent rapidement chez les animaux mêmes, quelques phénomènes apparaîssant, d'habitude, pendant la période pubérale.

Pour mes investigations j'ai eu recours à des souches de mycobactéries du tubercule du type humain, et j'ai employé, comme milieux culturaux, l'agar glycériné, le milieu de Petroff, et celui de Petragnani.

J'ajoutais donc aux terreins susdîts une quantité constante d'urine de femmes enceintes, urine qui avait été recueillie le matin, à jeûn, afin d'empêcher que son contenu en hormone fût délayé par les liquides ingérés ou bien par le sérum de sang.

Le sang aussi était prélévé à jeûn et suivant toutes les règles de l'asepsie.

L'urine était filtrée par aspiration sur bougies Chamberland L_2, préalablement contrôlées moyennant le filtrage de bouillon-cultures de *bacterium prodigiosum*. J'ajoutais l'urine et le sérum de sang aux tubes du milieu Petroff et à ceux du milieu Petragnani, en en faisant découler, à l'aide de pipettes stériles, la quantité voulue, qu'ensuite je distribuais très soigneusement, moyennant une öse de platine, sur toute la surface en bec de flûte. Par contre, l'agar glycériné était fluidifié en bain-marie, et lorsque la température avait baissée jusqu'à 50°, j'addictionnais, à l'aide d'une pipette stérilisée, l'urine ou le sérum. Afin d'obtenir un mélange homogène, je faisais rouler les tubes entre mes mains; ensuite je les laissais refroidir sur un plan incliné.

Sur les milieux préparés de la sorte, j'ensemançais les mycobactéries

du tubercule, en introduisant dans chaque tube des quantités le plus possible égales de matériel microbien, qui était soigneusement délayé. Pour chaque échantillon de sérum ou d'urine je préparais différents tubes et j'apprêtais aussi les contrôles en me servant des milieux susdits non additionnés avec l'urine ou le sérum, et d'autres milieux additionnés d'urine ou de sérum de femmes non enceintes.

L'ensemencement effectué, les tubes et les contrôles étaient portés à l'étuve, à 37°.

Au bout de dix jours je procédais à una première observation des cultures, en répétant l'examen tous les cinq jours jusqu'à ce qu'un mois s'était passé de l'ensemencement.

Par des recherches préliminaires j'ai observé qu'en rapport avec la quantité du milieu reparti dans chaque éprouvette, l'addition d'une dose correspondante à 0 cm. 5 d'urine ou de sérum, était telle à permettre une imbibition satisfaisante de la surface en bec de flûte pour le milieu de Petroff et pour celui de Petragnani, autant que la solidification de l'agar-glycérine.

D'après mes expériences il ressort qu'en additionnant aux milieux culturaux susdits des hormones gravidiques se trouvant dans l'urine et dans le sérum de sang des femmes enceintes, on n'apporte pas aux milieux mêmes des caractéristiques particulières qui soient aptes à mieux favoriser le développement du mycobactérium de la tuberculose, en comparaison de ces mêmes milieux auxquels on avait additionné une égale quantité d'urine ou de sérum de sang de femmes normales ou à la période des règles.

Et, en général, le sérum de sang favorise le développement du mycobactérium de Koch, tandis que l'urine semble exercer une considérable inhibition sur son développement.

Naturellement il n'est pas possible, sur la base de ces résultats, d'exclure nettement que chez la femme enceinte les hormones gravidiques en altérant de quelque manière les fonctions de l'organisme ou en troublant l'équilibre normal des sécrétions internes, puissent agir aussi indirectement en exaltant la virulence du mycobactérium de Koch; mais d'après mes observations il est évident que lorsque ces hormones, tels qu'ils se trouvent dans l'urine et dans le sang des femmes enceintes, sont additionnés aux milieux culturaux ordinaires, ils n'exercent aucune influence active sur le développement du germe en question.

Institut de Bactériologie et Immunologie de la R. Université de Turin. Section Obstétrique de l'Hôpital « Maria Vittoria ».

DEL CARPIO I. et CONSOLI V. – **A propos du pouvoir que le sang défibriné de la femme en travail d'accouchement exerce en provoquant l'interruption de la grossesse. (Epreuves expérimentales).**

D'après les investigations récemment réalisé par MM. Fontes (1), Almagia (2), da Cuhna (3), Perez (4) il est démontré que dans le sang défibriné d'une femme en travail et dans le sérum de sang du cobaye, prélevé pendant l'accouchement, il existe une substance apte à produire les contractions, *in vitro*, de l'utérus de cobaye isolé, et les contractions, *in vivo*, de l'utérus de la femme et du cobaye, pourvu que le terme physiologique de la grossesse soit atteint ou même dépassé.

Par une série de recherches nous avons voulu vérifier l'existence de cette substance, d'autant plus que M. Wodon (5), au cours de ses épreuves de contrôle, avait observé les mêmes contractions moyennant l'apport dans un bain de Ringer, où l'on avait suspendu une corne utérine de cobaye, de sang défibriné soit de femme accouchant, soit de femme normale, d'homme et de lapin, et de l'urine (ramenée au pH = 7) de femme en travail, de femme normale et d'homme.

Nous nous étions proposé d'obtenir l'épreuve de l'existence d'une substance apte à déterminer les contractions utérines, et d'étudier ensuite par la voie expérimentale, s'il était possible de provoquer l'interruption de la grossesse même en des périodes assez précoces.

Dans ce but nous avons injecté, par voie sous-cutanée, 22 cobayes se trouvant à de différentes périodes de la grossesse, moyennant 10 cmc. de sang de femme en travail, avec 4-5 cm. de dilatation du col de l'utérus. Pour le contrôle nous avons pris 8 femelles de cobaye, enceintes, auxquelles nous avons injecté du sang défibriné de femme normale ou d'homme.

Tous les cobayes injectés moyennant le sang de femme en travail ont accouché dans une période de temps qui oscillait entre 16 et 72 heures à partir de l'injection; les contrôles, au contraire, ont accouché à terme à la distance de 6-10-15 jours depuis l'injection. L'examen des produits expulsés nous a permis de constater qu'il est possible d'obtenir l'interruption de la grossesse même assez précocement; en effet nous avons

---

(1) Fontes J., *C. R. de la Soc. Biol.*, T. CII, 26, p. 212 et 227; T. CIII, 5, pag. 349; T. CVII, 14, pag. 88; *Presse Médic.*, 1930, 68, pag. 1140; — Idem et Jacobson K. *Presse Médic.*, 1930 (cité par Fontes).

(2) Almagia M., *La Clinica Ostetrica*, nn. 3, 4, pag. 129 et 203; *Archives It. de Biol.*, Anno LXXXIII, 2, 3, pag. 148.

(3) Cuhna (da) P., *C. R. Soc. Biol.*, T. CVIII, 28, pag. 200.

(4) Perez M. L., *C. R. Soc. Biol.*, T. CIV, 24, pag. 1021.

(5) Wodon J. L., *C. R. Soc. Biol.*, T. CV, 31, pag. 468.

constaté que le poids de quelques uns de ce produits atteignait à peine les 15 grammes.

En supposant que la substance présente dans le sang de la femme en travail et apte à provoquer l'interruption de la grossesse dans le cobaye, ait été de nature hormonale, nous avons voulu constater si elle était éliminée avec l'urine.

C'est pourquoi nous avons injecté dans un deuxième lot de 5 cobayes enceintes, 10 cmc. d'urine de femme en travail, tandis que les 5 témoins étaient injectés moyennant une égale quantité d'urine de femme normale ou d'homme. L'urine a été toujours ramenée au pH = 7,4. Même dans cette deuxième série d'expériences nous avons obtenu, au bout d'un court delai après l'injection, l'interruption de la grossesse chez tous les cobayes injectés à l'aide de l'urine de femme en travail; les contrôles, par contre, ont accouché à terme, beaucoup de temps après l'injection.

Les données que nous avons obtenues par les épreuves *in vivo* ont été confirmées par les tracés des contractions de l'utérus isolé de cobaye, suspendu en liquide de Ringer-Locke oxygéné et maintenu à la température de 37° C., auquel on additionnait du sang défibriné de femme accouchant, de femme normale et d'homme, aussi bien que de l'urine de femme en travail, de femme normale et d'homme.

Nous devons remarquer, à ce propos, que seulement les utérus de cobayes jeunes, vierges, nous ont donné des résultats sûrs; par contre les utérus appartenant aux cobayes adultes, qui avaient accouché depuis longtemps, se sont montré impropres pour les recherches de ce genre. En pratiquant ces épreuves nous avons essayé le comportement des utérus isolés, vis-à-vis du calcium; nous avons procédé suivant les règles de technique suggérées par M. Chiò (1).

Les résultats obtenus de ces dernières épreuves nous consentent d'affirmer que dans le sang et dans l'urine de la femme en travail il existe une substance apte à augmenter le tonus du préparé musculaire et d'en provoquer ou d'en augmenter les contractions; dans le sang et dans l'urine de la femme normale ou de l'homme ils existent des substances aptes seulement à stimuler d'une façon modérée, les contractions spontanées.

D'après l'ensemble de nos investigations, l'existence, dans le sang de la femme en travail d'accouchement, d'une substance apte à provoquer les contractions utérines et à déterminer chez le cobaye l'interruption de la grossesse, est confirmée, et il est confirmé aussi que cette substance est éliminée avec l'urine, ainsi que nos épreuves l'ont démontré.

Université Royale de Catanie. Institut de Médecine Légale et Clinique d'Obstétrique et de Gynécologie.

(1) Chiò M., *Arch. di Farmac. Sperim. e Scienze Affini*, 1922, pag. 7-31 et 38.

CUCCO G. P. – **Essai du pouvoir pathogène des Cocci pyogènes.**

Pour pouvoir donner une signification concrète à la division des microrganismes en pathogènes et saprophytes, on doit d'abord admettre la solution du problème de la définition de la virulence, qui en constitue l'élément essentiel.

Une maladie à origine microbienne peut éclater seulement par suite d'une concordance de plusieurs conditions, dont certaines — qui vont de la réceptivité de l'espèce jusqu'à la réceptivité de l'individu — sont strictement indispensables, tandis que d'autres participent en qualité d'éléments favorisants, tels que la réceptivité et l'hyperréceptivité des organes, les conditions d'alimentation, de milieu, de fatigue, l'état de miopragie dans lequel se trouvent certains systèmes, etc.

Sur la base de ces connaissances on tend désormais à admettre universellement que la présence d'un microrganisme pathogène ne suffit pas au début d'une maladie, mais que cette dernière s'établit sous le concours des éléments susmentionnés et d'autres encore, chacun desquels, d'ailleur, au lieu d'être facile à définir, est constitué, à son tour, d'autres nombreux facteurs moins évidents et moins faciles à dissocier, mais, malgré cela, non moins importants. Il suffit de considérer, par exemple, que la réceptivité individuelle, au lieu d'être un facteur bien délimité, est la résultante d'un nombre infini d'autres facteurs, parmi lesquels il y a celui de la situation immunitaire du sujet, en raison des vaccinations vérifiées ou insensibles, qui lui viennent des maladies connues ou latentes qu'il a eu en précédence.

Néanmoins il faut admettre que le microrganisme pathogène renferme un « quid » qui sert à le différencier d'autres microbes moins virulents ou bien tout à fait non virulents ou saprophytes, de la même espèce. C'est justement dans le but d'individuer ce « quid » que l'on a proposé et réalisé une quantité tellement considerable de recherches qu'il serait impossible de les énumérer; d'ailleurs, plusieurs d'entre elles se sont démontrées, avec le temps, définitivement inutiles. J'ai voulu pourtant reprendre l'étude de ce problème, en me rapportant au Coccacées, car ces dernières, à différence d'autres germes pathogènes, consentant une large gamme de virulence, présentent par degrés pratiquement insensibles, le passage des variétés saprophytes aux variétés fort pathogènes.

A ce point de vue il serait théoriquement nécessaire de pouvoir *fixer* le degré de virulence d'une souche donnée, ainsi que l'on a proposé la *normalisation* des caractéristiques dans l'étude de certains caractères culturaux. Mais cette condition serait en contraste avec le caractère de

la *plasticité* extrême (Arthus) de la virulence qui, en se difformant facilement sous les influences les plus variées, en rend l'étude très ardue.

On a essayé un groupe de Coccacées, moyennant deux ordres d'épreuves, savoir: les premières de nature biochimique, telles que l'aptitude saccharolytique, l'action lytique exercée sur les germes par la bile dans les bouillons-cultures, la coagulation du plasma citraté et le temps de coagulation, l'hémolyse en plaques d'agar-sang. la mesure du pouvoir protéolytique, la résistance à la chaleur, et l'influence des variations de la température sur le développement. Parmi les secondes on a essayé: l'inoculation sous la peau du petit rat et l'inoculation d'une quantité fixe de germes dans le creux articulaire du génou du lapin (épreuve de Dreyer). Enfin j'ai procédé à l'essai de l'activité antigène des germes en question, en étudiant le pouvoir agglutinant des sérums préparés moyennant une série préventive d'inoculation dans le lapin.

Pour ce qui concerne la provenance pathogène, les germes ont été isolés de foyers pyogènes humains de la nature la plus variée; les souches saprophytes ont été isolées de l'air.

Sur un total de 47 souches microbiennes dont 27 de provenance pathogène et les autres saprophytes, on a obtenu les résultats suivants (en négligeant les épreuves qui se sont démontrées tout à fait insuffisantes):

	g. pathogènes	*g. saprophytes*
Pouvoir hémolytique.....	positifs 13	positifs 6
Plasma-coagulase	» 12	» 4
Epreuve de Dreyer	» 25	» 2
Agglutination	» 24	» 9

La nature de la virulence, entendue comme activité immunitaire du germe contre l'hôte, contribuant à discréditer les épreuves biochimiques, celles biologiques devraient être mises en valeur, *à priori*. En réalité, tandis qu'en général une ou plusieurs épreuves rudimentaires basées sur la recherche d'une qualité ou d'une activité biochimique ne servent pas au but, on peut avoir de meilleurs résultats en joignant à ces épreuves, quelque recherche de nature biologique, en utilisant les animaux récepteurs. Par cela, à côté de la coagulation du plasma citraté et à l'action lytique du sang *in vitro*, l'inflammation qui se manifeste par suite de l'inoculation de germes dans le creux articulaire du génou du lapin et l'acquisition du pouvoir agglutinant de la part du sérum de cet animal opportunément traité, constituent un ensemble d'épreuves qui, par leur concordance soit positive que négative, sont à même de confirmer avec une considérable sureté, la pathogénité ou non du germe à l'examen.

Par contre, la question de la concordance du critérium sur le degré de virulence qui peut ressortir des recherches de laboratoire, avec celui qui resulte de l'ensemble des données cliniques du sujet dont le germe fut isolé, est très différente.

En effet c'est seulement dans un cas absolument exceptionnel que les différentes épreuves énoncées revèlent le même degré de sensibilité et, quant à cela, il faut admettre que les divergences les plus fortes se rapportent surtout aux épreuves biologiques, de sorte que, souvent, des germes ayant donné de très sérieux syndromes chez l'homme, déterminent des lésions expérimentales modiques, et *vice-versa*.

En tâchant d'expliquer le désordre apparent des réponses aux épreuves en question, on ne doit pas exclure que plusieurs fois des phénomènes de dissociation microbienne interviennent et que, ainsi qu'il arrive avec les milieux vaccinés, la privation de nourriture, l'addition de quelques composés au *substratum* nutritif ou le manque de quelques autres, l'action de substances antiseptiques et colorantes, etc., même l'inoculation pratiquée chez les animaux puisse agir comme un élément activant la dissociation, en empêchant ou en favorisant le développement d'éléments microbiens qui sont entre eux différents, tout en ayant une provenance en commun.

Institut de bacteriologié et immunologie de l'Université Royale de Turin. - Laboratoire de recherches scientifiques de l'Hôpital « Maria Vittoria ».

DI AICHELBURG U. – **Observations sur les propriétés biochimiques de certaines espèces des monillas.**

Il est connu que les hyphomycètes appartenants au genre *Monilia, Gmelin*, représentent l'agent étiologique de nombreuses manifestations pathologiques. Les plus importantes, au point de vue clinique, sont les moniliases pulmonaires, dont le diagnostic, surtout dans les pays au climat tempéré, est toujours très difficile, soit car les symptômes sont tels qu'ils simulent d'autres maladies, et spécialement la tuberculose, soit car les monilias que l'on peut retrouver dans les crachats, doivent être quelque fois considérées comme de simples saprophytes. On peut facilement comprendre l'importance des recherches sur ces hyphomycètes, si l'on ajoute aux difficultés du diagnostic clinique celles de l'identification et de la classification microbiologique.

Castellani, qui a eu l'occasion d'observer beaucoup de malades de formes différents de moniliases, a isolé un grand nombre de ces hyphomycètes, et a proposé une classification fondée sur leurs proprietés bio-

chimiques et culturales. En particulier il considère le comportement des monilias envers le lait, la gélatine, le sérum et les hydrates de carbone; de cette façon il en a pu identifier 12 groupes, doués de propriétés bien définies.

Ayant à ma disposition six souches de monilias appartenantes à des groupes divers, j'ai voulu étudier leurs propriétés, en suivant la méthode de Castellani.

Le six souches étudiées sont: *Mon. krusei* (Castellani, 1909); *Mon. guillermondi* (Castellani, 1910); *Mon. pinoyi* (Castellani, 1910); *Mon. pseudotropicalis* (Castellani, 1910); *Mon. macedoniensis* (Castellani, 1917); *Mon. metalondinensis* (Castellani, 1917).

Les souches ont été ensemencées en gélatine, sérum, lait tournesolé, et dans les solutions à 1 p. 100, en eau peptonisée tournesolée, des substances suivantes:

Alcools: glycérine, erythrite, adonite, mannite, dulcite.

Sucres: xilose, arabinose, glucose, lévulose, galactose, lactose, maltose, saccharose, raffinose, amidon, dextrine, inuline, salicine.

Les cultures ont été tenues en observation pour 21 jours à 37°, et les résultats ont été les suivants:

M. krusei: production d'acidité dans le xilose, d'acidité et de gaz dans le glucose et le lévulose.

M. guillermondi: production d'acidité dans le xilose, l'arabinose, le galactose, l'amidon et l'inuline; production d'acidité et de gaz dans le glucose, le lévulose, le saccharose et le raffinose.

M. pinoyi: on observe production d'acidité dans le xilose, l'arabinose, le galactose; production d'acidité et de gaz dans le glucose, le lévulose et le maltose.

M. pseudotropicalis: provoque la fermentation, avec production d'acidité, du xilose, de l'arabinose, l'amidon et la salicine; dégagement aussi de gaz avec le glucose, lévulose, galactose, lactose, saccharose et inuline, coagulation et acidification du lait tournesolé.

M. macedoniensis: production d'acidité dans le xilose, arabinose, maltose, amidon, salicine; production d'acidité et de gaz dans le glucose, lévulose, galactose, saccharose, inuline; coagulation et acidification du lait tournesolé.

M. metalondinensis: production d'acidité dans le xilose, arabinose, saccharose; production d'acidité et de gaz dans le glucose, lévulose, galactose, maltose.

Il faut observer que pour la détermination des divers groupes on ne tient aucun compte de la formation d'acides, mais seulement de la production de gaz.

Ces recherches confirment les propriétés biochimiques qui ont été

déjà établies par Castellani pour les groupes que j'ai examinés, et en outre que l'aptitude à fermenter, avec production de gaz, des hydrates de carbone, et la non aptitude à en fermenter des autres, représente une caractéristique très importante et qui est très utile en pratique pour reconnaître à quel groupe appartient une souche isolée d'une lésion pathologique. La méthode de Castellani demande une tecnique rélativement simple, un temps très court (généralement 3 ou 4 jours d'incubation, à 37°, sont suffisants) et donne les résultats les meilleurs et les plus sûrs.

L'unique précaution qu'il est nécéssaire de prendre c'est de proceder à l'étude des souches peu de temps après les avoir isolées, car bien de fois elles peuvent perdre leurs caractères après peu de repiquages. On doit observer pourtant que les souches que j'ai étudiées avaient été déjà réensemencées plusieurs fois, et cependant elles avaient conservé leur propriétés biochimiques et culturales.

Institut d'Hygiène de l'Université Royale de Turin.

TADDEI A. – **L'action de la lysocithine sur les microrganismes.** 1.ère Note.

Déjà en 1905 Noc (1) avait pu observer l'action dissolvante que le venin des serpents exerce vis-à-vis de quelques microrganismes, et, sur la base de ses recherches, il avait établi que l'action diastasique du venin ne s'exerce pas de la même façon sur tous les microrganismes, de sorte qu'il est possible d'en faire des groupes, suivant la sensibilité qu'ils ont démontrée. En effet, l'A. a rangé les microrganismes qu'il a expérimenté, dans les cinq groupes suivants: 1.er groupe = *b. antracis* (variété asporogène), vibrion du choléra; 2.ème groupe = *stafilococcus aureus*, b. de la diphtérie, *b. subtilis* (cultures jeunes); 3.ème groupe = b. pesteux, b. de la diarrhée verte, *b. coli*, b. du typhus, b. de Friedländer; 4.ème groupe = b. de la psittacose, *b. piocianeus*, *b. prodigiosum;* 5.ème groupe = b. de la tuberculose auquel on peut ajouter tous les microrganismes sporulés et les moisissures. De plus M. Noc avait pu observer les différentes phases et les différentes altérations à travers lesquelles les microrganismes passent avant d'être dissous dans le milieu environnant.

Ensuite, après la découverte de la lysocithine, qui est une substance dérivée de l'action diastasique exercée par le venin des serpents, des abeilles et du scorpion commun, sur la lécithine, et après les diligentes

---

(1) Noc F., *Proprietés bactériolytiques et anticytasiques du venin de cobra.* (Ann. Inst. Pasteur, vol. 19, p. 209-225, 1905).

recherches de Délezenne et Fourneau (2) suivant lesquelles elle n'est rien d'autre que l'anhydride de l'éther mon-palmito-phospo-glycérique de la choline, on a constaté la remarquable action hémolytique de cette substance. Mais la lysocithine n'a pas seulement une action hémolytique pour les globules rouges non nucléaires; elle développe aussi une action énergique sur les leucocytes et, en vertu de cette action, la substance en question ressemble et est presque identique à une autre que l'on a trouvé preformée dans les tissus des animaux normaux, et précisément la « substance Y » de M. Belfanti (3). En plus de ces deux actions principales de la lysocithine, il y en a plusieurs autres très importantes; c'est ainsi que l'action de cette substance a été étudiée sur l'endothélium des capillaires (Volterra et Spinelli), sur les branchies des petits poissons (Lebert) et sur les têtards (Cuboni); mais l'action cytolytique la plus caractéristique c'est l'action que la lysocithine exerce sur les cellules nerveuses du cerveau, sur le rein (Guerrini), sur les muscles (Houssay), sur les capsules surrénales, sur le coeur, sur le foie et même sur le pancreas et sur le tymus (Dessy et Latzer).

Etant donné l'action démolitrice exercée sur les cellules animales par le venin des serpents et par la lysocithine — substance dérivée de l'action du venin même sur la lécithine — j'ai voulu voir quelle est l'action développée par cette dernière substance sur les microrganismes.

La lysocithine m'a été gentiment fournie par l'Institut Sérothérapique de Milan, sous la forme d'un matériel presque amorphe, à la couleur blanche-jaunâtre, à consistance sémi-solide; je l'ai stérilisée moyennant de l'alcool évaporé, ensuite jé l'ai délayée dans de la solution physiologique et placée dans les bouillons que j'utilisais pour l'ensemencement des microrganismes dans le pourcentage total de l'1:500 et de l'1:5000. Les contrôles dûment exécutés, j'observais 24 heures après l'ensemencement, en gardant les éprouvettes à l'étuve, à 37° C.

Pour ces recherches j'ai employé 40 souches différentes de microrganismes, et précisément: parmi les aérobies: *stafilococcus piogenes aureus* (deux souches de l'I.S.M.), *citreum* et *albus;* streptocoque (hémolytique, pyogène, *viridans);* pneumocoque; meningocoque; gonocoque; *micrococcus catarrhalis; brucella melitensis; brucella* Bang; bacille du typhus; b. du paratyphus A.; b. du paratyphus B; b. *coli*; b. de Shiga-Kruse; b. de Strong; b. de Flexner; b. Y (Hiss et Russel); bac. métadysentérique (N. 1) de l'I.S.M.); six souches de b. pseudo-diphtériques N. 1, 8,

(2) Delezenne C. et Fourneau E. (Bull. Soc. Chim., vol. 15 et 16, série IV, p. 354-421).

(3) Belfanti S., *Intorno ad una emoleucolisina estratta dal pancreas.* (Atti della Soc. Lom. di Soc. Med. e Biol., vol. XVIII, 1924).

(3) Belfanti S., *Intorno alla emoleucolisina del pancreas e dei suoi rapporti con la lisocitina di Délezenne e Fourneau.* (Boll. I.S.M., n. 5, 1924).

13, 14, 25 A 3 de l'I.S.M.); bac. de la peste humaine; vibrion cholérique humain; bac. du charbon hématique; b. du choléra des poulets. Parmi les anaérobies: b. du tétanos; *b. botulinus; b. perfringes* (deux souches de l'I.S.M.); *b. hystoliticus;* vibrion septique.

J'ai expérimenté de même l'action de la lysocithine sur le bactériophage anti-Shiga; j'ai tâché d'adapter un microrganisme à l'action de la lysocithine et d'observer l'action du bactériophage sur les microrganismes en voie d'accoutumance ou déjà accoutumés à l'action de la lysocithine.

D'après les nombreuses épreuves faites, je peux tirer les conclusions suivantes: les microrganismes ne présentent pas une égale sensibilité à l'action de la lysocithine, de sorte qu'à ce point de vue il est possible de ranger les microrganismes en trois groupes bien distincts. Au premier groupe appartiennent les microrganismes fortement lyso-sensibles qui sont lysés complètement par la lysocithine; parmi les aérobies: le *streptococcus* (pyogène, hémolytique, *viridans*), le pneumocoque, le b. de la diphtérie (toutes les deux souches employées), un 1.er groupe de pseudodyphtériques (N. 13 et 14), le b. du charbon hématique; parmi les anaérobies: toutes les souches employées. Au deuxième groupe appartiennent tous les microrganismes lyso-sensibles qui, tout en ressentant l'action lytique de la lysocithine n'en souffrent pas trop; nous avons donc: le *stafilococcus piogenes* dans ses trois variétés, le meningocoque; le gonocoque; le *micrococcus catarrhalis;* la *brucella melitensis*, la *bruc.* Bang.; et un deuxième groupe de pseudo-diphtériques (N. 8 et A_3 de l'I.S.M.). Au troisième groupe appartiennent les microrganismes lyso-resistants qui ne ressentent point l'action de la lysocithine présente dans le milieu cultural, c'est-à-dire: le b. du typhus, le b. du paratyphus A, et du paratyphus B, le *b. coli*, le b. de Shiga-Kruse, le b. de Flexner, le b. de Strong, le b. Y (Hiss et Russel), le b. métadysentérique, (1° de l'I.S.M.), un troisième groupe de pseudo-diphtériques (N. 1 et 25), le b. de la peste humaine, le vibrion cholérique humain, le b. du choléra des poulets.

Pour ce qui concerne les microrganismes du premier groupe et, en partie, ceux du deuxième groupe aussi, l'on peut remarquer que la lysis de ces derniers ne se réalise pas d'une façon tout à fait identique pour chaque espèce ou variété et qu'à l'examen microscopique ces différences sont bien prononcées; néanmoins on peut signaler très approximativement les phases successives à travers lesquelles les différentes souches de microrganismes passent de la forme typique à la lysis totale ou subtotale à cause de la présence, dans le milieu cultural, de la lysocithine. Il a été possible de saisir ces phases, à la suite d'une étude que j'ai entreprise en mettant quelques uns des microrganismes expérimentés (*stafilococcus piogenes aureus* (lyso-sensible), pneumococque, b. de la diph-

térie, b. pseudo-diphtérique, b. du charbon hématique (fortement lyso-sensibles), *b. coli* (lyso-résistant), dans une forte concentration de lysocithine dans le milieu de culture (1:20) et en les observant, à l'aide du microscope, immédiatement après qu'on avait pratiqué l'ensemencement des microrganismes dans ce milieu; puis, après une demie heure et enfin après 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 24 heures.

Les altérations, donc, auxquelles sont assujettis les microrganismes par action de la lysocithine dans le milieu cultural, peuvent être résumées en cinq différentes phases: pendant la première phase on a un regonflement, les microrganismes atteignent, parfois, des dimensions trois ou même quatre fois plus grandes que les dimensions normales. Très probablement on parvient à cette phase parce que sous l'action de la lysocithine il se vérifie une altération de l'ectoplasma des microrganismes: celui-ci devient perméable aux sels et à l'eau du milieu extérieur.

Lors de la deuxième phase, l'état de regonflement est suivi par un état de diffusion de la substance qui compose la cellule du microrganisme, dans le milieu environnant; bien souvent cette substance se fragmente en granulations de différentes dimensions, lesquelles, d'ordinaire, gardent, au point de vue tinctorial, les mêmes caractéristiques du microrganisme dont elles proviennent.

Troisième phase: les granulations vont subir ensuite un successif processus de lysis de sorte que l'on assiste à leur disparition et — on peut bien le dire — à la stérilisation finale du milieu cultural lysocithinisé. A côté de ces phases destructrices il y en a une autre qu'on peut dénommer quatrième phase, pendant laquelle il y a une prédominance des processus de dégénération; cette phase est particulièrement caractéristique des microrganismes appartenant au deuxième groupe (lyso-sensibles). Dans cet état de dégénération les microrganismes présentent soit des dégénérations vacuolisées, soit des altérations de la substance composant la bactérie, autant sous la forme de granulations — d'habitude bien grosses et, maintenant, assez petites avec toutes les phases intermédiaires — que de zones difficiles à colorier, probablement mortifiées. Il existe encore une autre phase (la cinquième), mais on l'observe très rarement; pendant cet état on peut constater la mort du microrganisme, sans qu'il passe à travers les phases dont on vient de parler; ce fait peut être démontré avec toutes les caractéristiques morphologiques et tinctoriales de cette mort particulière du corp du microrganisme.

Pour le deuxième groupe il est intéressant de remarquer que l'intensité de la lysis est en rapport surtout avec la concentration de la substance délayée dans le milieu environnant, mais cela jusqu'à un certain point, car on a pu démontrer que les microrganismes de ce groupe peuvent s'accoutumer à vivre et à se multiplier à la présence de lysocithine

dans la concentration de 1:500. A ce propos il y a lieu de remarquer encore que les microrganismes appartenant à ce groupe, avant de s'adapter à la lysocithine, passent à travers une phase de sensibilité plus prononcée vis-à-vis de l'action lytique de cette substance; quand ils ont surpassé cette phase, on a l'accoutumance.

Au cours de la phase de sensibilité plus élevée, les microrganismes ne ressentent pas trop l'influence successive d'un bactériophage homologue, tandis qu'ils redeviennent normalement sensibles pendant la période d'accoutumance à la lysocithine.

Pour ce qui concerne le troisième groupe, on doit remarquer le fait que soit la symbiose avec des microrganismes lyso-sensibles, soit la pousse de ces microrganismes en anaérobiose, soit enfin l'addition d'une diastase (pepsine, trypsine) ne favorisent aucunement l'action de la lysocithine sur les microrganismes de ce groupe. Très probablement cette résistance est due au fait que dans l'ectoplasma des microrganismes appartenant à ce groupe ils existent des substances (par ex. la chloestérine, les lipoïdes) telles à empêcher ou à neutraliser de quelque façon l'action lytique que la lysocithine exercerait vis-à-vis d'eux. Il paraît pourtant qu'un autre fait soit avéré: c'est-à-dire que les microrganismes fortement lyso-sensibles, se dissolvant dans le milieu environnant — ce qui est prouvé par les symbioses avec les microrganismes du troisième groupe — ne mettent pas en liberté des substances qui favorisent d'une certaine manière, l'action de la lysocithine sur les microrganismes lyso-résistants; et de même les ferments jusqu'ici étudiés n'ont pas cette propriété.

De plus, les préparés microscopiques on mis en évidence que les microrganismes gardent inaltérés les propriétés tinctoriales caractéristiques (Gram-positivité ou Gram-négativité).

Enfin je veux rappeler encore l'attention sur le fait que les microrganismes à localisation notamment intestinale (groupe typhus-coli, b. dysentériques, b. du choléra humain), sont nettement lyso-résistants.

Le bactériophage anti-Shiga ressent, lui-aussi, très évidemment, l'action de la lysocithine: en effet, au cours de plusieurs épreuves répétées, j'ai pu constater qu'elle empêche nettement l'action lytique du bactériophage même.

Institut Sérotherapique de Milan - Institut de Microbiologie de l'Université Royale de Milan.

Direttore responsabile: Dr. Prof. A. Zironi.